

Résumé en Français de la Thèse de : **Mona Rahmati**

Intitulé : « **Rôle du Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) dans le Processus Implantatoire, chez la Femme et en Modèle Murin** »

Soutenance en anglais prévue : **le 26 Septembre 2014**, à l'Hôpital Saint Louis, Paris, France

Directrice : **Mme Nathalie Ledee**, MD PhD, Inserm U976

Co-Directeur : **Mr Gérard Chaouat**, MD PhD, Inserm U976

Rapporteurs : **Mme Elisabeth Menu** (Institut Pasteur)

Mme Celine Mehats (Institut Cochin)

Unité de préparation de la thèse :

Equipe « Implantation Embryonnaire et Dialogue Cytokinique Mère-Conceptus »

INSERM UMRS-782, 32 rue des Carnets, Clamart, France

INSERM UMRS-976, Hôpital Saint Louis, 1 avenue Claude Vellefaux, 75010, Paris, France

Plan :

1. Introduction

2. Les Colony Stimulating Factors (CSF) dans la Reproduction

3. Les Effets du G-CSF sur l'Endomètre Humain

4. Les Effets du G-CSF sur un Modèle Murin Pro-Abortif

5. Discussion, Conclusion et Perspectives

1. Introduction

L'immunologie de la reproduction est une discipline qui réunit les principes généraux de l'immunologie générale et les aspects spécifiques de la reproduction et du développement. Les Colony Stimulating Factors (CSFs) sont une illustration des possibilités d'application médicale de ce domaine. Dans la famille des CSFs, le Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) apparaît comme une cytokine majeure pouvant intervenir dans la thérapie de pathologies de la reproduction, en particulier celles liées à un défaut d'implantation embryonnaire. Dans ce travail, à travers une revue des CSFs dans la reproduction, une étude des gènes cibles du G-CSF dans l'endomètre Humain ainsi qu'une étude des effets de la supplémentation systémique en G-CSF dans un modèle murin pro-abortif, nous avons essayé d'approcher certains mécanismes d'action de cette cytokine dans le processus implantatoire via le biosenseur endométrial.

1.1. Rappels sur l'Implantation Embryonnaire

Malgré plus de trente ans de progrès majeurs en Assistance Médicale à la Procréation, l'implantation embryonnaire humaine reste un facteur limitant et un phénomène impossible à étudier *in situ*, étant donné des considérations éthiques évidentes. Actuellement, nous savons que, chez la femme, après une fécondation naturelle et un trajet à travers une des trompes utérines, l'embryon entre dans la cavité utérine au cinquième jour, au stade de blastocyste. L'implantation se déroule en plusieurs étapes successives : apposition, adhésion et invasion. Le déroulement physiologique de ces différentes étapes nécessite une préparation endométriale spécifique. L'implantation embryonnaire est effectivement un processus particulièrement invasif, comparée aux mécanismes de l'invasion néoplasique, pouvant survenir sur tout type de tissu, sauf l'endomètre. Durant le cycle, l'endomètre ne permet l'implantation embryonnaire que pendant une période précise de cinq jours appelée « fenêtre d'implantation », du cinquième au neuvième jour après l'ovulation.

La réceptivité endométriale pendant cette fenêtre implantatoire est liée aux changements structuraux et fonctionnels qui surviennent de manière cyclique, sous l'effet des hormones ovariennes. Les modifications structurales concernent l'épithélium de surface (apparition de pinopodes et de microvillosités), les glandes (deviennent contournées et sécrétantes), les artères appelées spiralées, et le stroma (avec une matrice lâche et des cellules decidualisées). A l'échelle moléculaire, on observe la disparition de systèmes anti-adhésives (glycocalyx, mucines) et l'apparition de molécules d'encrage et de migration cellulaires (intégrines). Ces changements concernent enfin la population de cellules immunitaires locales, d'une immunité acquise protégeant pendant la majorité du cycle l'endomètre contre les attaques microbiennes, vers une immunité innée spécifique permettant l'implantation d'un embryon semi-allogénique.

L'endomètre decidualisé est alors décrit comme un biosenseur capable d'établir un dialogue avec le blastocyste. Des échanges de signaux embryonnaires et maternels vont ainsi permettre une implantation harmonieuse. D'une part l'endomètre doit être capable d'interagir avec l'embryon, d'autre part, l'embryon doit être capable de moduler cette réaction maternelle afin d'établir un environnement endométrial favorable à l'implantation. Du point de vue immunologique et en simplifiant à l'extrême, une implantation embryonnaire réussie nécessite une réaction inflammatoire initiale (permettant les premières étapes d'encrage de l'embryon) transitoire suivie d'une modulation de l'immunité locale (évitant le rejet de l'embryon reconnu comme non soi). Cet équilibre complexe et délicat est maintenu localement grâce à de nombreux acteurs : cytokines, facteurs de croissance, molécules HLA spécifiques, cellules immunitaires locales telles les utérine Natural Killers (uNK). Ces interactions répétées entre mère et conceptus permettent non seulement la réussite des premières étapes de l'implantation, mais aussi le contrôle de l'invasion embryonnaire et la placentation ultérieure.

Après l'adhésion à l'endomètre maternel, les cellules trophoblastiques du blastocyste se différencient en cytotrophoblaste et syncytiotrophoblaste. Grâce à la sécrétion d'enzymes lytiques et de facteurs pro-apoptotiques, l'embryon progresse dans le stroma endométrial. La formation de villosités choriales primaires, secondaires et tertiaires a lieu au cours de la troisième semaine de gestation. Parmi les villosités tertiaires, certaines atteignent la lame basale endométriale et constituent les villosités d'encrage, à partir desquelles une

population cellulaire extrêmement invasive appelée cytotrophoblaste extravilleux va débiter sa migration. Certaines de ces cellules poursuivent une migration interstitielle jusqu'au tiers proximal du myomètre, et d'autres ont un trajet endovasculaire, envahissant et remodelant la paroi des artères spiralées préalablement decidualisées, permettant l'établissement d'un système vasculaire à faible résistance et optimisant ainsi les échanges materno-fœtales. Ces processus aboutissent à la mise en place d'un placenta hémochorial.

Du point de vue endométrial, un défaut de decidualisation ou de réceptivité, une hyperactivation immunitaire locale, ou un défaut de contrôle de l'invasion embryonnaire peuvent induire une implantation défectueuse avec des conséquences diverses. Des dérégulations profondes et précoces peuvent induire des tableaux cliniques tels que des fausses couches à répétition ou des échecs d'implantation embryonnaire. Une invasion embryonnaire limitée peut avoir pour conséquence obstétricale un retard de croissance intra utérin ou une pré-éclampsie. Au contraire, un défaut de contrôle de l'invasion embryonnaire peut être à l'origine de pathologie obstétricale hémorragique due à un défaut de délivrance placentaire, telle que le placenta accreta.

1.2. Rappels sur l'Immunologie de la Reproduction

L'immunologie en général, traite de la reconnaissance du soi et du non soi, permettant la défense et l'intégrité de l'organisme. On y distingue classiquement l'immunité innée de l'immunité adaptative. L'immunité innée, via des cellules telles que les macrophages, les cellules dendritiques, les neutrophiles, les Natural Killers et les lymphocytes autres que B et T, est responsable d'une réponse immunitaire immédiate et antigène indépendante. L'immunité adaptative assure une réponse antigène spécifique, via les cellules présentatrices d'antigènes, leur reconnaissance par les lymphocytes T avec l'intervention du système HLA, la production d'anticorps spécifiques par les lymphocytes B et la mise en place de cellules mémoire.

Ces systèmes immunitaires complexes et plastiques interagissent et sont régulés par des molécules solubles secrétées appelées chemokines et cytokines. L'environnement

cytokinique des cellules immunitaires est décisif dans leur différenciation et leur orientation, vers une réponse pro-inflammatoire ou tolérogène.

Du point de vue de l'immunologie générale, l'implantation embryonnaire et la grossesse sont des événements exceptionnels qui ne peuvent s'expliquer par les mécanismes classiques de la transplantation. L'immunologie de la reproduction est un domaine qui inclut les différents aspects de ces deux spécialités.

Les premières hypothèses tentant d'expliquer « le paradoxe de l'allogreffe fœtale » datent des années 1950, décrivant le fœtus comme immunologiquement neutre ou la mère comme immunodéprimée lors de la grossesse. Les hypothèses suivantes dans les années 1970 cherchaient des mécanismes généraux d'immunotolérances.

Mais dès les années 1980, l'attention s'est particulièrement portée sur des mécanismes locaux. Le premier mécanisme exploré à l'interface mère-conceptus a été l'immunosuppression locale avec la présence de cytokines tolérogènes. L'immunogénicité particulière des annexes de l'embryon avec la présence de molécules HLA monomorphes (HLA-G) ou à polymorphisme réduit (HLA-C) a aussi été rapporté comme participant à cette immunomodulation locale.

L'existence de cellules immunitaires clés appelées les utérine Natural Killers (uNK) et leur interaction avec le HLA-C ont parallèlement été décrites comme indispensables au remodelage vasculaire des artères spiralées, permettant une placentation satisfaisante ultérieure.

Par ailleurs, la présence de certaines cytokines dans cette interface a été démontrée comme nécessaire non seulement à l'établissement de l'équilibre immunitaire locale mais aussi pour la croissance embryonnaire, fœtale et placentaire ; ceci constitue la « théorie de l'immunotrophisme ».

Parmi les nombreuses cytokines présentes à cette interface, l'existence de facteurs inflammatoires a été démontrée comme nécessaire à l'implantation embryonnaire. L'implantation n'est plus décrite comme nécessitant uniquement un environnement tolérogène, mais une suite d'événements immunitaires régulés dans une chronologie spécifique. La famille des CSFs, et en particulier le G-CSF, font partie de ces réseaux cytokiniques clés à l'interface mère-conceptus.

1.3. Objectifs et Hypothèse

Dans ce travail, nous avons essayé de contribuer à la compréhension du rôle des CSFs en reproduction et en particulier l'action du G-CSF dans l'implantation embryonnaire, notre hypothèse étant que le G-CSF pourrait intervenir dans les phénomènes implantatoires en modulant le biosenseur endométrial avant l'arrivée du blastocyste.

Pour cela, nous présentons un article de revue sur les CSF en reproduction, un article de recherche portant sur l'effet de la supplémentation en G-CSF sur des gènes cibles dans l'endomètre humain et un article de recherche sur les effets de la supplémentation systémique en G-CSF sur l'implantation embryonnaire dans des modèles murins pro-abortif et fertile.

2. Les Colony Stimulating Factors (CSF) dans la Reproduction

2.1. Les Colony Stimulating Factors (CSFs)

La famille des CSFs (Colony Stimulating Factor) comprend: le CSF-1 ou M-CSF (Macrophage-Colony Stimulating Factor), le CSF-2 ou GM-CSF (Granulocyte-Macrophage-Colony Stimulating Factor), et le CSF-3 ou G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor). Ces cytokines sont étudiées à partir du milieu des années 1960 et ont été nommés d'après leur action sur la prolifération et la différenciation des leucocytes. Leur implication dans la reproduction a été portée depuis le début des années 1970, quand une activité de type CSF a été identifiée dans le placenta humain et murin.

2.2. Localisation des CSFs dans l'Appareil Reproducteur

Tous les CSFs et leurs récepteurs correspondants ont été localisés le long de l'appareil reproducteur féminin, mais chacun a des sites d'expression spécifiques. À l'interface fœto-maternelle, le GM-CSF et son récepteur sont les plus étudiés. Dans l'ovaire, la granulosa et le liquide folliculaire, le G-CSF semble soulever plus d'intérêt dans la recherche fondamentale et les applications médicales. Dans le plasma séminal, le GM-CSF est à nouveau le plus étudié parmi les CSFs, notamment en raison de son action sur l'endomètre avant l'implantation.

2.3. Les fonctions des CSFs dans la Reproduction

Le M-CSF et surtout le G-CSF sont décrits comme impliqués dans les mécanismes de l'ovulation. Dans l'implantation embryonnaire, la croissance placentaire et le développement embryonnaire, le GM-CSF a la plus grande implication, à travers son rôle d'immuno-modulateur, ses effets angiogéniques et trophiques locaux.

2.4. Les Applications Médicales des CSFs

Les CSF ont été proposés comme biomarqueurs. Les variations sériques du G-CSF et du M-CSF lors de l'ovulation et de la stimulation ovarienne suggèrent une utilisation possible de ces taux sériques comme marqueurs prédictifs des résultats en FIV. Des taux sériques élevés de CSF ont également été décrites dans diverses pathologies de la reproduction telles que la pré-éclampsie, l'accouchement prématuré ou les fausses couches spontanées à répétition. Mais surtout, le taux de G-CSF folliculaire a été présenté comme un biomarqueur pré-conceptuel du potentiel implantatoire de l'ovocyte correspondant et est actuellement en développement pour l'application clinique.

Compte tenu de ses effets trophiques, la supplémentation en GM-CSF dans les milieux de culture embryonnaires en cas d'assistance médicale à la procréation est en cours d'évaluation. Des études récentes suggèrent un taux de grossesses évolutives supérieur avec cette supplémentation, en particulier chez les patientes ayant des antécédents de fausses couches spontanées à répétition.

Enfin, la supplémentation en G-CSF semble être actuellement l'une des thérapies les plus innovantes en médecine de la reproduction. Quelques tentatives de supplémentation systémique en G-CSF ont déjà été rapportées en cas de dysovulation. L'instillation intra-utérine de G-CSF a été suggérée en cas de troubles trophiques de l'endomètre résistant aux traitements habituels. Mais surtout, la supplémentation systémique en G-CSF est actuellement évaluée pour améliorer la réceptivité utérine, chez les patients ayant des antécédents de fausses couches spontanées à répétition ou d'échec d'implantation embryonnaire.

2.5. Article Dédié aux CSFs dans la Reproduction

Un article de revue original dédié à ce sujet et intitulé « Colony Stimulating Factors 1, 2, 3 and Early Pregnancy Steps: From Bench to Bedside » a été soumis au « Journal of Reproductive Immunology », et est présenté dans les annexes de ce travail.

3. Les Effets du Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) sur l'Endomètre Humain

3.1. Le Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) en Reproduction

La supplémentation en G-CSF apparaît aujourd'hui comme l'une des thérapies les plus prometteuses en médecine de la reproduction. Cette thérapie innovante est proposée avec différents modes de supplémentation : soit systémique, par administration sous-cutanée, ou locale, par instillation intra-utérine. Les indications médicales ne sont pas strictement définies. Le G-CSF est actuellement utilisé dans différents cas de troubles de la reproduction tels que fausses couches spontanées à répétition inexpliquées, les échecs d'implantation embryonnaire répétés ou les troubles trophiques de l'endomètre.

Le G-CSF et son récepteur ont été localisés dans le tractus génital féminin. Les effets pro-inflammatoires, immuno-modulateurs ou trophiques du G-CSF ont été évoqués dans différents modèles, mais les mécanismes d'action par lesquelles le G-CSF devrait influencer positivement sur l'implantation embryonnaire sont largement inconnus. L'objectif de la présente étude était d'identifier les possibles voies moléculaires endométriales influencées par le G-CSF, avec les gènes cibles impliqués sélectionnés à partir d'une étude préalable en microarray et l'utilisation d'un modèle ex vivo de microhistoculture d'endomètre précédemment décrit.

3.2. Utilisation d'une Précédente Etude de Microarray Endométrial

Des voies et des interactions moléculaires hypothétiques influencées par le G-CSF dans l'endomètre ont été sélectionnées grâce à une étude précédente en microarray. Cette étude avait été réalisée en comparant l'expression de gènes dans l'endomètre lors de la fenêtre d'implantation, entre des femmes fertiles, les patientes ayant des antécédents d'échecs répétés d'implantation embryonnaire et les patientes avec une histoire de fausses couches spontanées à répétition idiopathiques. Cette analyse avait suggéré de nombreuses dérégulations d'expression pré-conceptuelles dans l'endomètre. Lors de l'analyse de ces voies complexes impliquant le G-CSF, l'expression de certains gènes semblait

spécifiquement dérégulée. L'article précédent consacré à cette étude en microarray est disponible dans les annexes.

Parmi les gènes dont l'expression endométriale était fortement dérégulée et qui hypothétiquement dépendait de l'action du G-CSF, nous avons identifié des gènes impliqués dans la régulation immunitaire, dans le système de coagulation et des intégrines. Nous avons sélectionné les gènes suivants, comme des cibles potentiels du G-CSF dans l'endomètre : G-CSF Receptor (G-CSFR), l'intégrine alpha-V / bêta-3 (ITGB3) impliquée dans la migration cellulaire et l'implantation embryonnaire, le Plasminogen Activator Urokinase Receptor (PLAUR) décrit dans l'interaction avec les intégrines et impliquée dans la migration cellulaire, la Thymidine Phosphorylase (TYMP) impliquée dans l'angiogenèse locale, CD40 et CD40 ligand (CD40L) impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire.

Nous avons d'abord confirmé les variations de l'expression endométriale de ces gènes cibles chez les femmes fertiles et les patients atteints de troubles de la reproduction. Puis, nous avons utilisé un modèle ex vivo pour illustrer les effets de la supplémentation en G-CSF sur l'expression endométriale de ces gènes.

3.3. Utilisation d'un Précédent Modèle Ex Vivo de Microhistoculture Endométriale

La microhistoculture endométriale utilisée dans notre étude a déjà été décrite comme un modèle ex vivo fonctionnel. Les échantillons d'endomètre ont été prélevés lors de la fenêtre implantatoire. Ils ont été placés sur des gels d'éponge de collagène, dans un milieu spécifique, quotidiennement supplémenté en estradiol et progestérone. Dans ce modèle, la fonctionnalité et de la différenciation cellulaire sont conservées pendant cinq jours. L'article précédent consacré à ce modèle est présenté dans les annexes.

Sur ces cultures ex vivo, nous avons utilisé une supplémentation pendant trois journées consécutives. Pour la stimulation avec du G-CSF, les cinq conditions de culture étaient les suivantes : du G-CSF à 20 ou 100 ou 200 ng / ml, ou de l'anticorps bloqueur anti G-CSF à 3 pg / ml, et une condition de culture témoin sans G-CSF ni anticorps. Pour cibler spécifiquement l'action endométriale du G-CSF, les mêmes expériences ont été réalisées avec du

Granulocyte-Macrophage-CSF (GM-CSF) à 20 ou 100 ou 200 ng / ml ou de l'anticorps bloqueur anti GM-CSF à 3 pg / ml.

Les protéines recombinantes ou les anticorps ont été ajoutés au milieu de culture chaque jour, pendant trois jours consécutifs. Après leur incubation de trois jours, les échantillons d'endomètre ont été prélevés et placés dans une solution de stabilisation de l'ARN, pour une extraction ultérieure avec RT-PCR quantitative, afin d'évaluation des variations d'expression des gènes cibles considérés.

3.4. Article Original Dédié aux Effets du G-CSF dans l'Endomètre Humain

Un article de recherche original dédié à ce sujet et intitulé « Granulocyte-Colony Stimulating Factor Related Pathways Tested on an Endometrial Ex-Vivo Model » a été soumis et accepté au journal « PlosOne », et est présenté dans les annexes de ce travail.

4. Les Effets du Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF) sur un Modèle Murin Pro-Abortif

4.1. Le Modèle Murin Pro-Abortif CBA/J x DBA/2

Il existe plusieurs modèles murins pour l'étude de l'implantation embryonnaire et ses pathologies. Parmi ces modèles, l'accouplement de femelles CBA / J avec des males DBA / 2 montre une forte incidence de résorption embryonnaire en comparaison avec les femelles CBA / J accouplées aux males Balb / c, considérés comme des croisements contrôles. La résorption de l'embryon chez la souris est considérée comme équivalente à la fausse couche précoce spontanée chez la femme. Ce croisement murin pro-abortif a par ailleurs récemment été décrit comme offrant un modèle murin de la pré-éclampsie.

Les mécanismes de résorption embryonnaire dans ce modèle sont décrits comme indépendants du CMH et semblent être liés à certains peptides présents dans le plasma séminal paternel, interférant avec le biosenseur endométrial pré-implantatoire. Une publication récente sur ce sujet précis est proposée dans les annexes.

En médecine de la reproduction, la supplémentation en G-CSF est proposée comme un traitement efficace pour réduire les taux de fausses couches spontanées ou augmenter le taux d'implantation embryonnaire, tandis que ses actions sur l'implantation restent effectivement peu documentées. Notre objectif était d'identifier les effets de l'administration du G-CSF, par la voie systémique, sur les taux d'implantation et de résorption embryonnaire. Nous avons donc testé les effets de la supplémentation systémique du G-CSF à des doses différentes dans les deux croisements.

4.2. Les Schémas de Supplémentation en G-CSF

Au cours de la période post-ovulatoire et pré-implantatoire, entre le jour 1 et le jour 4 post-coïtum, les injections intra-péritonéales de G-CSF ont été réalisées chez des femelles CBA / J, soit après le croisement pro-abortif (CBA / J x DBA / 2) ou le croisement fertile (CBA / J x Balb / c). Les femelles ont été examinées chaque matin pour vérifier la présence d'un

bouchon vaginal et designer le 1^{er} jour de la gestation. Chaque femelle a ensuite été incluse dans un groupe spécifique tel que décrit ci-dessous.

Deux protocoles de supplémentation de G-CSF ont été utilisés : dans le premier groupe, trois doses répétées de G-CSF (dilué dans la Bovine Serum Albumin BSA à 1%) ont été injectées aux jours 1, 2 et 3 post-coïtum, tandis que dans le deuxième groupe, une injection unique de G-CSF a été réalisée le premier jour post-coïtum. Par ailleurs, des souris femelles CBA / J issues de chaque type de croisement ont reçu les mêmes schémas d'injection que précédemment décrits, mais réalisé avec uniquement de la BSA 1%, formant ainsi les deux groupes placebo injectés. Nous avons finalement formé deux groupes de contrôles non-injectés issus de chaque croisement.

4.3. Evaluation des Taux de Résorption et d'Implantation Embryonnaires

Les femelles issues des différents groupes ont été sacrifiées au 10^{ème} jour de la gestation. Dans les cornes utérines, le nombre de sites d'implantation embryonnaires, ainsi que le nombre d'embryons résorbés ont été évalués pour chaque groupe. Le taux de résorption embryonnaire pour chaque femelle a été déterminé comme étant le rapport entre le nombre de sites d'implantation résorbés et le nombre total de sites d'implantation. Les taux de résorption et d'implantation embryonnaires ont été comparés entre les femelles de chaque croisement, pour différents schémas de supplémentation en G-CSF, d'injection de placebo, ou des contrôles non-injectés.

4.4. Article Original dédié aux effets du G-CSF sur les Modèles Murins

Un article de recherche original dédié à ce sujet et intitulé « Variations of Embryo Implantation and Embryo Resorption Rates after Systemic Supplementation by Granulocyte-Colony Stimulating Factor in an Abortion Prone and Control Murine Mating Combinations » a été soumis au « Journal of Reproductive Immunology », et est présenté dans les annexes de ce travail.

5. Discussion, Conclusion et Perspectives

5.1. Effets du G-CSF sur l'Endomètre Humain

Les gènes sélectionnés et considérés comme cibles potentielles du G-CSF dans l'endomètre présentent différentes fonctions impliquées dans l'implantation embryonnaire : facteurs de croissance, promoteur de migration cellulaire, molécules d'encrages, régulateurs de prolifération cellulaire.

En comparant les femmes fertiles aux patientes infertiles avec des antécédents de fausses couches répétées idiopathiques ou échecs répétés d'implantation embryonnaire idiopathiques, nous avons remarqué des variations importantes dans l'expression endométriale des différents gènes cibles préalablement sélectionnés.

Dans le modèle ex vivo, des variations d'expression des gènes cibles ont été observées aux plus fortes doses de stimulation par le G-CSF. Ces variations étaient spécifiques au G-CSF et n'ont pas eu lieu lorsque les mêmes expériences contrôles ont été réalisées avec le GM-CSF (Granulocyte-Macrophage-Colony Stimulating Factor).

Dans l'endomètre humain au cours de la fenêtre d'implantation, après avoir montré la différence d'expression de certains gènes cibles chez des patientes infertiles, et après avoir observé les variations d'expression de ces gènes cibles sous stimulation spécifique du G-CSF ex vivo, notre étude met en évidence le rôle essentiel du G-CSF au cours du processus implantatoire. Cette cytokine semble capable de moduler les gènes fondamentaux intervenant localement dans l'adhésion de l'embryon, la migration cellulaire, le remodelage tissulaire et l'angiogenèse, phénomènes nécessaires pour une implantation et une placentation réussies.

5.2. Effets du G-CSF sur le Modèle Murin

Le croisement murin femelle CBA / J x male DBA / 2 est un modèle de fausses couches spontanées à répétition, comparé au croisement fertile femelle CBA / J x male Balb / c. Les

mécanismes de résorption embryonnaire dans ce modèle ne sont pas liés au CMH et sont supposés être provoqués par la présence d'antigènes paternels provoquant une protection (par Balb / c) ou induisant un avortement (par DBA / 2). Ces antigènes seraient présents dans le plasma séminal et pourraient moduler localement l'environnement endométrial via des cellules T régulatrices et les cellules dendritiques. L'intervention du biosenseur endométrial est donc essentielle dans ce modèle murin.

Le schéma de supplémentation en G-CSF que nous avons décrit a été choisi pour cibler spécifiquement l'endomètre pré-implantatoire, en évitant des effets plus précoces sur l'ovulation ou des effets ultérieurs sur la croissance placentaire ou embryonnaire.

Dans ce modèle murin spécifique, les différentes variations que l'on observe sur les taux d'implantation ou de résorption embryonnaires témoignent d'une modulation du biosenseur endométrial par la supplémentation en G-CSF. L'effet endometrial de l'administration de G-CSF semble dépendre des doses et de la cinétique d'injection. Par ailleurs, lorsque l'on considère les effets induits par le G-CSF sur notre modèle murin fertile, cette supplémentation ne semble pas inoffensive.

5.3. Conclusion and Perspectives

La famille des CSFs est une illustration de la portée de l'immunologie de la reproduction. Ces cytokines et leurs récepteurs sont localisés le long de l'appareil reproducteur, et non seulement dans les cellules immunitaires. Grâce à divers effets locaux sur l'immuno-modulation ou immuno-trophicité, ils agissent sur les fonctions reproductives telles que l'ovulation, implantation embryonnaire, le développement embryonnaire ou placentaire. Des études fondamentales sur les CSF, leur localisation, leurs variations physiologiques ou pathologiques, leurs diverses actions, ont généré des applications directes dans la médecine de la reproduction.

Malgré leur intérêt indéniable en médecine de la reproduction, les mécanismes d'actions des CSFs ne sont pas encore élucidés, en particulier concernant les effets à long terme de leur utilisation sur les premiers stades du développement embryonnaire. De plus, une cinétique de supplémentation inadaptée pourrait interférer avec un environnement

immunitaire endométrial propice et induire des défauts d'implantation et de développement embryonnaire.

G-CSF en particulier apparaît comme une thérapie innovante et prometteuse dans certains cas difficiles et non résolus d'échec de la reproduction, compte tenu de son action sur les mécanismes fondamentaux qui régulent le processus implantatoire. Toutefois, les indications médicales strictes de cette supplémentation dans le domaine de la reproduction et son mode d'administration ne sont pas encore établis.

Dans nos études, nous avons considéré l'endomètre decidualisé pré-implantatoire, sans la présence de l'embryon, et nous avons mise en évidence des dérégulations endométriales spécifiques. Ces observations impliquent que le diagnostic pré-conceptionnel et préventif de certaines dérégulations locales est possible.

L'application de nos observations au concept émergent mais fondamental de biosenseur endométrial, on peut considérer que des thérapeutiques ciblées pourraient améliorer la reproduction par le rétablissement pré-conceptionnel d'un endomètre réceptif. Les indications spécifiques d'une supplémentation en GCF en cas de troubles de la reproduction pourraient aussi être issues du diagnostic de dérégulations locales de certains de ses cibles endométriales.

L'optimisation de la réceptivité endométriale pourrait être d'un grand intérêt et pourrait faire partie des futures thérapies, non seulement spécifiquement dans la médecine de la reproduction, mais à plus long terme, en empêchant d'autres pathologies obstétricales qui découleraient d'une implantation embryonnaire initiale défectueuse.